

К ИСТОРИИ СТАНОВЛЕНИЯ МОЛЕКУЛЯРНОЙ БИОЛОГИИ

К 95-летию со дня рождения академика В. А. Энгельгардта

Молекулярная биология, пожалуй, единственная в своем роде наука, характеризующаяся неимоверной насыщенностью открытий за исторически короткий срок. Причем почти любое из этих открытий являлось фундаментальным, формирующим новую область знаний.

Безусловно, предпосылки к возникновению молекулярной биологии складывались задолго до ее признания как отдельной науки, обладающей специфическими методами. Однако только в 50-е годы XX века она получила права гражданства среди других наук, в частности, биологических дисциплин.

До этого времени работы, посвященные изучению нуклеиновых кислот и белков, проводились как бы самостоятельно и, на первый взгляд, независимо друг от друга. Нуклеиновые кислоты рассматривались в связи с белками только в смысле попыток функциональной дискриминации этих соединений, главным образом, хранения наследственной информации. Тем более, что в 30—40-е годы* господствовало мнение, что именно белки являются самыми важными соединениями в клетке и что в основе всех жизненных функций ле-

жит деятельность белковых молекул.

Однако к концу 50-х годов исследования белков и нуклеиновых кислот сплелись в тугой узел одного фундаментального процесса в клетке — синтеза белков, реализации наследственной информации.

В 1728 году итальянский ученый Якопо Бартоломео Беккари выделил из пшеничной муки ранее неизвестное вещество, которое назвал клейковиной. Оказалось, что это новое вещество в высушенном состоянии напоминает свернувшийся сухой белок куриного яйца. Это открытие положило начало поискам белковоподобных веществ и изучению их, как мы теперь говорим, физико-химических свойств.

К концу XVIII века термин «белок» стал применяться уже к наименованию веществ, характеризующихся общим признаком — свертываемостью при нагревании. Наступает период накопления данных о белковоподобных веществах, в который можно назвать описательным. Параллельно расширяется ассортимент источников растительного и животного происхождения для получения этих соединений.

Из многообразия форм долж-

* Если особо не отмечается, то имеется в виду XX век.

было вытекать и многообразие функций, выполняемых белками в клетке. Однако в то время все попытки объяснить биологическую индивидуальность белков разбивались об отсутствие данных по химическому составу этих сложных молекул.

Первые данные по элементарному составу белковых молекул были получены Гей-Люсаком и Тенаром, а в 1820 году А. Браконно обнаружил в продуктах разложения белковых веществ и аминокислоту — глицин. Последующие открытия аминокислот в составе белков (лейцин, тирозин и т. д.) свидетельствовали о том, что аминокислоты являются неотъемлемыми компонентами при построении этих соединений. Всего же было найдено 20 аминокислот, обычно встречающихся в белках.

В 30-х годах XIX века появляются первые гипотезы о строении белковых веществ, основной посылкой которых была идея о едином принципе построения молекул белков, исходящая из теории радикалов органических веществ, созданной И. Я. Берцелиусом.

В качестве радикалов, т. е. основных блоков белковых молекул, рассматривались различные противоядные аминокислоты. К подобным гипотезам можно отнести «урентальную теорию» П. Шютценберге, теорию «элементарных рядов» А. Я. Данилевского, идею «протаминного ядра» А. Косселя, учение о «жирных» М. Зигфрида. Отличаясь определенным своеобразием, эти воззрения на структуру белка несли на себе общий отпечаток идеи фрагментарного строения белковой молекулы. Самое ценное в них было то, что под фрагментами, блоками авторы подразумевали

аминокислоты и их производные.

Таким образом, к концу XIX века как бы выкристаллизовалось понятие о сложной молекуле белка как некоем сочетании аминокислот. В области химии белка сложилась ситуация, гребущая появления человека, который, опираясь на данные об элементарном составе белков и фрагментов их частичной деградации, гипотезы и теории, смог бы с помощью принципиально новой методологии вывести правильную, соответствующую действительности структуру молекулы белка. Таким человеком явился крупнейший немецкий химик-органик, фактический основоположник биоорганической химии Эмиль Фишер. Он выдвинул гипотезу о том, что белки представляют собой полимеры аминокислот, соединенные амидной связью. Подобный тип связи Фишер называл пептидной (по аналогии с пептонами — продуктами неполной деградации белков).

Казалось, проблема строения белков была решена. Однако в 20-х годах Т. Спердберг открыл, что молекулярный вес белков гораздо больше, чем представлял себе это Э. Фишер. Кроме того, из эго расчета вытекало, что форма молекул при данной массе должна быть сферической и лишь местами вытянутой, линейной.

Невозможность сочетать представления о компактности белковых молекул с пептидной теорией Фишера побудила многих ученых с сомнением отнестись к последней. Появились различные модели циклического строения белков, которые были довольно популярны в 30—40-е годы. Однако в начале 30-х годов У. Эстберг, используя метод рентгеноструктурного ана-

лиза, обнаружил, что α - и β -кератины, фиброин и коллаген, которые относятся к классу фибриллярных белков, имеют регулярную структуру с повторяющимися вдоль оси элементами. Учитывая это, Поллинг и Кори в 1951 году установили, что пептидная цепь может иметь две наиболее вероятные и вместе с тем простейшие структуры— α -спираль и β -конформацию (структуру типа складчатого слоя).

Эти данные объясняли строение линейных участков молекулы белков, но вопрос о компактной укладке полипептидных цепей в шарообразную форму глобулярных белков оставался открытым. В конце 50-х годов и эта проблема была решена, благодаря работам Дж. Кендрию и М. Перутца на примерах миоглобина и гемоглобина. Миоглобин, присутствующий в скелетных мышцах, является белком, подобным гемоглобину, но в отличие от него состоит из одной полипептидной цепи, тогда как гемоглобин—из четырех. Было показано, что α -спирали миоглобина и гемоглобина свернуты и уложены в компактную структуру. В молекуле гемоглобина отдельные полипептидные цепи (субъединицы), уложенные подобно молекуле миоглобина, соединены в одно целое с помощью малых сил взаимодействия. Таким образом, лишь к концу 50-х годов удалось полностью установить пространственное строение белковых молекул, хотя первые рентгенограммы фибриллярных белков были получены в 1918 году, а кристаллов глобулярных белков—в 1934 году. Конечно же, самым блестящим подтверждением пептидной теории Фишера явилось установление первичной структуры гормона белковой при-

роды—инсулина. А вот каким образом в клетке аминокислоты собираются в уникальные молекулы белков, невозможно было объяснить без знания биологической роли других важнейших химических соединений клетки—нуклеиновых кислот.

К концу XIX века было установлено, что клетка содержит постоянную структуру—ядро, наиболее важным компонентом которого является хроматин. Последнее состоит из измеримого числа нитевидных частиц—хромосом, которое при слиянии (оплодотворение) клеток и их делении (митоз и мейоз) остается постоянным.

Чрезвычайно сложные процессы распределения хромосом при митозе и мейозе не могли выработаться в процессе эволюции без должных из то оснований. Объяснение подобных явлений было дано в 80-х годах прошлого столетия видным теоретиком того времени Вильгельмом Ру. Он считал, что хромосомы представляют собой наследственный материал. Более того, он постулировал линейное расположение наследственных единиц в хромосомных нитях, не зная о том, что Мендель уже доказал существование таких единиц.

В то, что Ру понятия не имел о работах Грегора Менделя, легко можно поверить, ибо не только он, но и подавляющее большинство ученых того времени упустило из виду маленькую брошюру настоятеля Августинского монастыря города Брно под скромным названием «Опыты над растительными гибридами», которая на самом деле представляла собой фундаментальный труд по вопросам о наследственности. Мендель умер в 1884 году, по-видимому, не през-

ставляя, какие последствия будут иметь его «присушадебные экзерсисы».

В том же 1884 году Оскаром и Рихардом Гертвигами и Э. Страсбургером была выдвинута гипотеза о том, что именно в ядре находятся вещества—носители наследственности, которая получила свое развитие в теоретических трудах Августа Вейсмана (учение о «зародышевой и соматической плазме»). Вторичное открытие в 1900 году законов наследования Менделя Г. де Фризом, К. Корренсом и Э. Чермаком в свете данных о поведении хромосом при митозе и мейозе внесло определенную ясность в понимание механизмов передачи наследственных признаков. Таким образом, к началу XX века было уже твердо установлено, что наследственный аппарат клетки находится в ее ядре. Почему это важно?

Дело в том, что большинство ученых того времени в своих представлениях о механизмах процесса передачи наследственных факторов от поколения к поколению руководствовались наблюдениями и проявлениями внешних признаков животных и растений. А поскольку фенотип организма формируется главным образом за счет белкового материала, то ведущая роль в генетических процессах клетки приписывалась белкам. Это происходило еще и потому, что белки тогда были интенсивно изучаемыми химическими соединениями клетки и единственными, обладающими биологической индивидуальностью и специфичностью. Здесь не мешало бы отметить, что мнение о лидирующем положении белков в процессах передачи наследственной информации сохра-

нялось с некоторыми видоизменениями вплоть до 50-х годов. Однако научные факты, как улики в юриспруденции, вынуждают ученый мир признавать свои заблуждения и помогают установить истину. Хотя бывает и так, что факты существуют, но либо они интерпретируются неверно, либо сознательно отвергаются высокими научными авторитетами потому лишь, что они каким-то образом не укладываются в их концепции (история науки пестрит такими примерами), либо научные данные по тем или иным причинам до поры до времени остаются неизвестными широкому кругу специалистов, как это произошло с работой Менделя и... Фридриха Мишера.

В 1968 году швейцарский химик Ф. Мишер обнаружил в ядре клетки вещество, которое по своим свойствам резко отличалось от белков. После серии опытов и усовершенствования методов выделения ядер Мишер утвердился во мнении, что им открыто новое «семейство» химических соединений, которое он назвал нуклеином (нуклеус по-латынски—ядро). В 1889 году Астману удалось расщепить нуклеин на белковую и небелковую части. Эта последняя получила название нуклеиновой кислоты.

С 1900 г. по 1920 г. основные компоненты нуклеиновых кислот были уже охарактеризованы. Стало известно, что нуклеиновые кислоты состоят из четырех видов нуклеотидных оснований, пентозного сахара и фосфорной кислоты. Причем различия по сахарному остатку и асортименту нуклеотидных оснований привели к тому, что среди нуклеиновых кислот стали выделять два типа соединений: дезоксирибонуклеиновую кислоту

(ДНК) и рибонуклеиновую кислоту (РНК). Оба типа нуклеиновых кислот были обнаружены в организмах как растительного, так и животного происхождения. В то же время ДНК в отличие от РНК локализовалась исключительно в ядрах клеток. Этот факт вынуждал по-особому подходить к роли ДНК в функционировании клеток, ибо давно уже было известно, что хромосомы, материальные носители наследственных свойств организмов, также сконцентрированы в ядре. Более того, согласно теории гена Т. Моргана единицы наследственности (гены) расположены в хромосомах линейно. Поэтому вывод о том, что молекулярной основой хромосом, хранителей наследственной информации, может быть ДНК, напрашивался, казался бы, сам собой.

Однако в 30–40-х годах еще велико было «преклонение» ученых перед универсальностью свойств белков и поэтому трудно было отказать от мысли, что роль наследственного фактора клетки принадлежит молекулам небелкового происхождения. Да и физико-химические свойства нуклеиновых кислот были изучены не в той степени, как у белков. Это последнее имело существенное значение в развитии науки о наследственности, ибо, несмотря на прогресс генетики, основная концепция этой науки — концепция гена — оставалась в сущности, лишенной материального содержания.

Таким образом, в 40-х годах в научном мире успешно обрабатывалась идея о том, что молекулярной основой генетической информации может служить ДНК. Последующие годы принесли подтверждение этой гипотезы. В 1944 году

Эвери, Мак Леоду и Мак Карти удалось установить химическую природу феномена трансформации, открытого Гриффитом еще в 1928 году. Они предположили, что трансформирующим агентом является ДНК. Однако отсутствие явных доказательств в пользу того, что в составе этого активирующего начала нет примесей белка, а также взгляды их оппонентов на ДНК как на инертное соединение, не обладающее химической и биологической индивидуальностью (например, тетра nukлеотидная гипотеза Леашина), создали атмосферу скептицизма вокруг этого открытия.

Лишь в середине 50-х годов благодаря работам Буассена и супруги Вандерли, Хочкиса, Чаргафа, Херши и Чейн и других исследователей стало возможным сказать: «Несмотря на нежелание многих генетиков расстаться с общепринятым когда-то взглядом, согласно которому носителем кода генетической информации, локализованной в хромосомах, считали белок нуклеопротеидоз, факты, полученные при исследовании генетических типов у пневмококков, а также при изучении инфекции переноси наследственных признаков у фара, заставили большинство генетиков признать, что первичным генетическим субстратом служит ДНК».

В 1953 году Дж. Уотсон и Ф. Крик, опираясь на рентгенограммы, полученные М. Уилкинсом и Р. Франклином, «справила Чаргафа и «принцип спирали» Л. Полинга, предложили молекулярную модель структуры ДНК, окончательно развеяв сомнения относительно того, что ДНК является хранилищем наследственной информации и ге-

гетическим материалом клетки. «Двойная спираль явилась теоретической основой, обеспечивающей быстрый прогресс в области исследования процессов передачи наследственной информации, что привело к созданию современных представлений о репликации ДНК, транскрипции и трансляции в белковом синтезе...» Экспериментальное доказательство механизма репликации ДНК, предложенного Уотсоном и Криком, было получено в оригинальных опытах Месельсона и Сталя с помощью разработанного ими метода равновесного центрифугирования и сочетании с радиоактивным мечением. Согласно этим данным, во время репликации (в данном случае, редупликации) полинуклеотидные цепи ДНК расходятся и на каждой из них строится соответствующая комплементарная копия. Если учесть, что при митозе и мейозе, а именно при передаче и распределении наследственного материала происходит продольное расщепление хромосом, то, с учетом способности ДНК редуплицироваться, становится понятным молекулярный механизм функционирования генетического аппарата клетки, в основе которого лежит матричный синтез.

Концепция матричного синтеза была высказана задолго до установления структуры и биологической роли ДНК. К сожалению, тогда матричный синтез рассматривался исключительно в связи с белками, ибо природа гена не была еще установлена, а белки были единственными из известных соединений в природе, которые обладали химической и биологической специфичностью. И хотя представления о матричном синтезе белков

в том виде, в каком они предлагались, были ошибочными, заслугу авторов этой идеи, и в первую очередь Кольцова, трудно переоценить, так как им удалось предугадать механизм фундаментального свойства живого—способности к самовоспроизводству. С некоторыми оговорками эту способность к самовоспроизводству, в принципе, можно приписать и белкам. Ведь если у ДНК существует (а мы уже знаем, что это, действительно, так) аппарат непосредственного самовоспроизводства, то у белков этот путь опосредован через нуклеиновые кислоты. Белки как бы создали в ходе эволюции способ хранить информацию о себе в ДНК, чтобы зря не «суетиться», тратить энергию и искать пути синтеза нужных в данный момент новых белковых молекул (ср. с нематричным синтезом таких пептидов, как карнозин, грамицидин). Эволюция биосинтетического аппарата белков, по-видимому, шла от безматричного синтеза пептидов к матричному синтезу белков.

Однако, чтобы полнее представить себе биосинтез белков в клетке, следовало разрешить ряд важнейших вопросов. Каким образом информация о структуре белков доходит до места их непосредственного синтеза? Как происходит перевод «языка» нуклеиновых кислот на «язык» белков? Каковы участники этих процессов? Что может служить матрицей для синтеза белков?

С установлением генетической роли ДНК был перекинут молекулярный «мостик» от механизмов передачи наследственных признаков от поколения к поколению к механизмам проявления этих при-

знаков в поколениях, т. е. наметилась очевидная связь между активностью генов и биосинтезом белков. Далее, в середине 50-х годов в клетке были открыты структуры, содержащие белок и РНК: эти частицы получили название рибосом. Было замечено, что существует определенная корреляция между биосинтезом белков и функционированием рибосом. Еще раньше Браше, Касперсон, Кедровский высказали мнение об участии РНК в синтезе белков в клетке. В свою очередь, Белозерский и А. Спирин показали наличие в цитоплазме небольшой фракции РНК (около 2%), которая отличалась от основной массы РНК неустойчивостью своего состава, что, как оказалось, было связано с синтетическими процессами у белковых молекул. Жакоб и Моно предположили существование особого семейства РНК, которые, будучи комплементарными ДНК, могут служить посредниками между ядерным аппаратом клетки и цитоплазматическим аппаратом биосинтеза белков. Этот тип РНК получил название информационной (и-РНК). В дальнейшем ее стали именовать мРНК (матричная РНК). В цитоплазме мРНК соединялась с рибосомами, которые находились на стенках эндоплазматического ретикулума, где и наблюдался активный синтез белковых молекул.

В конце 50-х годов Криком была высказана идея, согласно которой должны были существовать РНК сравнительно малой молекулярной массы, РНК-адапторы, которые смогли бы, связав определенную аминокислоту, привести ее к нужному месту на матрице для синтеза белка, и что самое главное, «уза-

пать» это место. В этот же исторический для молекулярной биологии период группа исследователей открыла новую фракцию РНК—транспортные РНК (тРНК). Кстати, ими же почти одновременно был открыт еще один участник биосинтеза белков, но уже белковой природы, так называемые «рН-5 ферменты», или аминоцил—тРНК-сингетазы. Чтобы подчеркнуть биологическую роль этих ферментов, В. А. Энгельгардт предложил называть их «кодазами». Последующие исследования тРНК, действительно, показали, что каждая молекула ее соответствует определенной аминокислоте и содержит последовательность нуклеотидов, строго соответствующую своему положению на матрице. А эксперименты по ошибочному включению аминокислот в строящуюся цепь белка окончательно доказали справедливость «адапторной гипотезы» Крика.

Таким образом, в начале 60-х годов стало очевидным, что РНК принимают непосредственное участие в функционировании аппарата биосинтеза белков. Генетическая информация о конкретном белке, заключенная в ДНК, переписывается на мРНК, затем в рибосомах происходит перевод (трансляция) нуклеиновой кислотной «языка» в белковый: в роли переводчика здесь выступает тРНК. А вот ключ, которым пользуется тРНК для связывания четырехбуквенного алфавита нуклеиновых кислот с двадцатibuквенным алфавитом белков—это так называемый генетический код: каждой из двадцати аминокислот соответствует определенное сочетание трех из четырех нуклеотидов, которое называется кодоном (соответственно участок в тРНК,

«узнающий» свой кодон именуется антикодоном). С расшифровкой генетического кода стали понятны узловые моменты белкового синтеза.

Генетический код и «центральная догма» являются идейной основой молекулярной биологии, история которой, как в зеркале, отражается в представлениях о биосинтезе белков в клетке.

50—60-е годы ознаменовались лавинообразной результативностью научных фактов в молекулярной биологии. Рамки настоящей статьи ограничивают нас в описании всех тех событий, которыми был столь богат период становления молекулярной биологии. Поэтому нам приходится отбирать лишь те научные факты и идеи, которые служили краеугольными камнями в понимании общих процессов синтеза белков в клетке. В силу этого мы не вдаемся в экспериментальные детали, не проводим анализа ошибочных взглядов и углубленной интерпретации данных, приведших к открытию механизма биосинтеза белков, а также не претендуем на новизну приведенных данных, признавая их общеизвестность. Мы пытаемся лишь сделать более ясной и ощутимой логическую связь в цепи белково-нуклеиновых «взаимоотношений», приведших к правильному обоснованию концепции белкового синтеза. Поэтому пусть не кажется, что путь, по которому движется наследственная информация в клетке и который в молекулярной биологии известен как «центральная догма» (ДНК→РНК→белок), в уммах ученых прокладывался также легко и просто, как это может показаться, если исхо-

дить из схемы нашего изложения, тем более, что сама «центральная догма» пережила к настоящему времени ряд существенных изменений. Не изменилась лишь основная ее идея: поток генетической информации идет от нуклеиновых кислот к белку, но не наоборот. Важно в данном случае уяснить, почему же независимые, на первый взгляд, исследования в области структуры и функций нуклеиновых кислот и белков неминуемо должны были логически сойтись в одной проблеме — биосинтезе белков? Потому, отвечаем мы, что оба эти направления в конечном счете должны были дать ответ на два фундаментальных вопроса, поставленных перед человеком природой: 1. что является хранилищем наследственной информации, т. е. памятью живой природы? 2. как реализуется эта информация, т. е. фактически, что такое жизнь в биологическом смысле этого слова?

К сожалению, в конце 70-х годов с возникновением генной инженерии в молекулярной биологии замечился отход от проблемы биосинтеза белков. «Исследователи, внесшие очень большой вклад в изучение биосинтеза белков, перешли к другим проблемам и объектам. У некоторой части биологов и химиков создалась иллюзия, что в изучении биосинтеза белков наступило затишье, что эта область стала чуть ли не «старомодной». Подобное состояние вещей не должно оставлять равнодушными специалистов в области молекулярной биологии, поскольку знание всех тонкостей биосинтеза белков, возможно, и есть ключ к пониманию загадки жизни.

И. МАДОЯН